

# 交雑魚マダイ雌×クロダイ雄の大豆粕飼料でのフィターゼ適正添加量

金 良洙, A. Biswas, B. K. Biswas, 滝井健二

(養殖グループ)

近畿大学水産研究所

Kim et al.<sup>1)</sup> は交雑魚マダイ♀×クロダイ♂(F<sub>1</sub>) が魚粉(FM)の67%を大豆粕(SBM)に代替し、フィターゼを2500 units/kg 添加した S<sub>40</sub>P 飼料に高い利用性を示すことを明らかにした。そこで、本研究では40%大豆粕配合飼料へのフィターゼ添加効果について検討した。

これまで魚類用配合飼料への SBM 利用について多く検討され、加工方法の違いによる栄養価の差異が報告されている。<sup>2-11)</sup> しかし、価格の面から SBM の利用が好ましい。

## 材料および方法

**試験飼料** 試験飼料の組成と一般成分を Table 1 に示した。試験飼料はタンパク質源として FM を 46% 配合した対照の C 飼料と FM と SBM の配合割合を 15 と 40 とした S<sub>40</sub> 飼料、そして S<sub>40</sub> にフィターゼを 1000, 2000, 3000 および 4000 units/kg で添加した SP<sub>1000</sub>, SP<sub>2000</sub>, SP<sub>3000</sub> および SP<sub>4000</sub> を調製した。これらの飼料原料を均質になるまで混合した後、外割りで 30% の水道水を加えて良く練り合わせ、造粒機で直径 5.0 cm のペレットに成型して凍結乾燥器で乾燥した。試験飼料は調製したのち給与するまで -20°C のフリーザーに保存した。試験飼料の一般成分をみると、C 飼料では SBM 配合の各飼料より糖質含量は 3% 程度低く、リン含量は 5 mg/g 程度多かったが、他の成分に大きな違いは認められなかった。

**供試魚および飼育方法** 供試魚には体重 76.1±1.1 g の F<sub>1</sub> 稚魚を用いた。すなわち、屋内 300 ℓ 容角型水槽に供試魚を 10 尾ずつ収容し、所定の飼料を 1 日 2 回 (09:00, 16:00) 飽食給与して 16 週間飼育した。飼育期間中は水温 19.6±0.6°C の加温濾過海水を 3 ℓ/min で注水した。なお、飼料の消化率を測定するため、飼育試験終了後に必要尾数を C, S<sub>40</sub>, SP<sub>2000</sub> および SP<sub>4000</sub> 区から、屋内 350 ℓ 容 Guelph 式円形採糞水槽に移し、所定の飼料を 1 日 2 回飽食給与して 3 週間した。各水槽には先と同様に加温濾過海水を 3 ℓ/min で注水し、採糞は後半の 2 週間、毎朝 08:00 に行った。また、飼育試験および消化率測定は、各飼料につき 3 および 2 反復区を設けて実施し、屋内の照明は 12L:12D (明期:06:00~18:00) とした。

**測定項目および分析方法** 試験開始および終了時には魚体重と尾叉長を測定すると共に、それぞれの飼料区から 18 尾を取り上げ、測定および分析に用いた。

試験飼料と全魚体の一般成分、すなわち、水分、粗タンパク質、粗脂質および粗灰分含量は AOAC 法<sup>12)</sup> で、また、試験飼料の糖質含量はフェノール硫酸法<sup>13)</sup> によって分析した。ヘパリン処理したシリンジを用いて尾動脈から採血し Ht および Hb はそれぞれマイクロヘマトクリット方法<sup>14)</sup> および市販キット(Hb-テスト WAKO, 和光純薬、

**Table 1.** Feed formulation and proximate composition of the experimental diets

	C	S <sub>40</sub>	SP <sub>1000</sub>	SP <sub>2000</sub>	SP <sub>3000</sub>	SP <sub>4000</sub>
Brown fish meal	46	15	15	15	15	15
Soybean meal	-	40	40	40	40	40
Wheat gluten meal	10	10	10	10	10	10
Fish oil	10	12	12	12	12	12
Cellulose	9	1	1	1	1	1
α-starch	15	10	10	10	10	10
Vitamin mixture*	5	5	5	5	5	5
Mineral mixture*	5	7	7	7	7	7
Phytase (unit/kg)	-	-	1000	2000	3000	4000
Proximate composition (% DM basis)						
Crude protein	41.8	39.9	40.3	39.8	40.3	40.3
Crude lipid	14.3	15.1	14.9	15.1	15.1	15.0
Sugar	21.8	24.9	25.5	26.0	25.9	25.5
Crude ash	11.2	10.3	10.1	10.2	9.8	10.0
Phosphorus (g/kg diet)	19.6	14.4	15.0	14.9	14.8	13.7

\*Halver (1957)<sup>31)</sup>

日本)で測定した。飼料・全魚体および糞のリン含量分析は Banginski et al.<sup>15)</sup> の方法によった。一方、リン含量の測定のため脊椎骨を Sajjadi and Carter<sup>16)</sup> の方法で採取した。すなわち、魚体を蒸煮して取り出した脊椎を、残った筋肉と神経を超音波洗浄器で注意深く除去し脱イオン水で洗浄した後、105°Cの恒温機内で24 h 乾燥させた。乾燥した脊椎骨は粉碎シクロロホルム・メタノール混合液(1:1)で脱脂してリン分析に供した。

**統計処理** 本研究で得られたデータは一元分散

分析により、飼料および魚種による有意差 ( $P<0.05$ )を確認した後、平均値の差異を Duncan's new multiple range test<sup>17)</sup> によって有意差判定を行った ( $P<0.05$ )。なお、検定には SPSS の統計処理プログラム(ver. 12 for window)を用いた。

## 結 果

飼育成績を Table 2 に示した。いずれの項目にも有意な区間差は認められなかったが、終了時の魚体重、SGR、FCE などは SP<sub>2000</sub>~SP<sub>4000</sub> 区で高い傾向にあった。

全魚体の一般成分および各栄養素の見かけの蓄積率を Table 3 に示した。全魚体の一般成分では、終了時は開始時に比べて、各飼料区の水分含量は低く、粗脂質含量は高かった。終了時の一般成分に限ると、水分含量は SP<sub>3000</sub> 区が、脂質含量は SP<sub>1000</sub>~SP<sub>3000</sub> 区が有意に高かったが、リン含量も含めて他の成分に差異は認められなかった。各栄養素の見かけの蓄積率では、PRE に区間差はなかったが、LRE およびリン蓄積率では SP<sub>2000</sub> 区が他の区より高かった。

体重1 kg 増加する間のリン排泄量と脊椎骨のリン含量を Fig. 1 に示した。リン排泄量はC区が最も多く、SP<sub>2000</sub>~SP<sub>4000</sub> 区が低かった。一方、脊椎骨のリン含量は S<sub>40</sub> 区が最も低く、フィターゼ添加により改善し、SP<sub>2000</sub> 区ではC区と同レベルに達した。

**Table 2.** Growth performance in F<sub>1</sub> fed diets with different levels of fish meal, soybean meal and phytase supplementation

	C	S <sub>40</sub>	SP <sub>1000</sub>	SP <sub>2000</sub>	SP <sub>3000</sub>	SP <sub>4000</sub>
Initial weight (g)	75.6±1.5	76.3±0.7	76.2±1.4	76.4±1.7	76.1±1.0	76.3±0.8
Final weight (g)	151.8±6.0	145.3±13.6	149.2±2.3	152.1±4.6	153.4±1.9	152.8±4.2
Survival rate (%)	100.0±0.0	100.0±0.0	96.7±5.8	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
Feed consumption (g/100 g fish)	178.9±10.0	191.3±21.5	189.6±12.0	176.2±5.4	177.2±9.0	187.5±10.4
SGR (%) <sup>*1</sup>	0.62±0.05	0.57±0.08	0.60±0.02	0.61±0.02	0.63±0.01	0.62±0.03
FCE (%) <sup>*2</sup>	56.0±3.2	52.7±5.6	52.9±3.5	56.8±1.7	56.5±2.9	53.4±3.0
PER <sup>*3</sup>	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.1	1.4±0.0	1.4±0.1	1.3±0.1

<sup>\*1</sup> SGR; specific growth rate=100×(ln final body weight–ln initial body weight)/experimental period (days).

<sup>\*2</sup> FCE; feed conversion efficiency=100×[wet weight gain (g)/dry feed intake (g)].

<sup>\*3</sup> PER; protein efficiency ratio=(final body weight–initial body weight)/total protein intake (g).

**Table 3.** Carcass proximate composition and retention efficiency in F<sub>1</sub> under different treatments

	Initial	C	S <sub>40</sub>	SP <sub>1000</sub>	SP <sub>2000</sub>	SP <sub>3000</sub>	SP <sub>4000</sub>
Proximate composition (%)							
Moisture	68.8±3.3	64.1±1.0 <sup>a</sup>	64.3±0.5 <sup>a</sup>	64.3±0.6 <sup>a</sup>	63.7±0.5 <sup>a</sup>	62.8±0.8 <sup>b</sup>	64.5±0.9 <sup>a</sup>
Protein	16.6±0.2	17.5±0.7	17.6±0.4	17.6±0.2	17.2±0.1	17.5±0.2	17.6±0.4
Lipid	8.8±2.2	13.4±1.4 <sup>ab</sup>	12.4±0.8 <sup>b</sup>	14.3±0.7 <sup>a</sup>	14.6±0.3 <sup>a</sup>	14.6±1.4 <sup>a</sup>	12.6±1.2 <sup>b</sup>
Ash	5.0±0.2	4.7±0.9	4.6±0.3	4.8±0.4	4.5±0.2	4.7±0.4	4.5±0.3
Phosphorus	0.67±0.0	0.83±0.0	0.76±0.0	0.85±0.0	0.88±0.0	0.86±0.0	0.84±0.0
Retention efficiency (%) <sup>*</sup>							
Protein		24.6±1.3	24.8±2.3	24.5±1.6	25.5±0.8	25.9±1.3	24.7±1.3
Lipid		70.8±2.8 <sup>b</sup>	57.5±3.3 <sup>c</sup>	72.3±4.2 <sup>ab</sup>	77.0±2.2 <sup>a</sup>	76.0±3.5 <sup>ab</sup>	58.4±2.8 <sup>c</sup>
Phosphorus		29.4±1.3 <sup>c</sup>	32.6±2.6 <sup>c</sup>	39.1±2.4 <sup>b</sup>	43.4±1.3 <sup>a</sup>	41.3±2.0 <sup>ab</sup>	41.1±2.0 <sup>ab</sup>

<sup>\*</sup> Apparent nutrient or phosphorus retention = 100 × [(final whole body nutrient or phosphorus content – initial whole body nutrient or phosphorus content)/nutrient intake]

終了時における血液性状、血漿化学成分および体重に対する比臓器重値を Table 4 に示した。また、体重に対する幽門垂、前腸および直腸重値を Fig. 2 に示した。Ht, Hb, 血漿リンおよびカルシウム含量, CF, HSI, VSI などに区間差はなかった。一方、比幽門垂、前腸および直腸重値は、S<sub>40</sub>

区がいずれも最も高かったが、SP<sub>2000</sub> および SP<sub>4000</sub> 区と C 区の比腸および直腸重値に区間差はみられなかった。

C, S<sub>40</sub>, SP<sub>2000</sub> および SP<sub>4000</sub> 飼料に対する見かけ

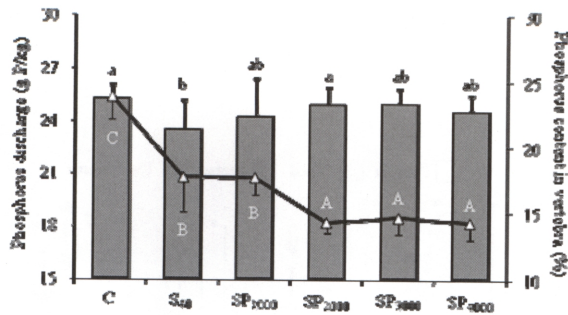


Fig. 1. Phosphorus discharge and phosphorus content in vertebra of F<sub>1</sub> fed with experimental diets. Phosphorus discharge (g P/kg weight gain)=[phosphorus fed (g)-phosphorus deposited (g)]/weight gain (kg), Apparent digestibility coefficient (ADC) of nutrients or phosphorus (%)=100×[1-{(dietary Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/fecal Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)×(fecal nutrient or phosphorus/dietary nutrient or phosphorus)}]. Bars with different letters are significantly different (P<0.05).

の消化率を Fig. 3 に示した。タンパク質消化率に有意な差異は認められなかった。脂質、糖質およびリン消化率はいずれも S<sub>40</sub> が最も低かったが、フィターゼの添加によっていずれの消化率も改善し、SP<sub>2000</sub> 飼料では脂質とリン消化率が、SP<sub>4000</sub> では

すべての消化率が C 飼料のレベルまで向上した。

## 考 察

FM15%・SBM40%配合の S<sub>40</sub> 飼料に、フィターゼを0~4000 units/kg 添加して F<sub>1</sub> を 16 週間飼育したところ、飼料成績に有意な区間差はなかったが、SGR および FCE は 2000 units/kg 以上の SP<sub>2000</sub>~SP<sub>4000</sub> 区で、C 区と同等の優れた値が得られた。また、LRE およびリン蓄積率は SP<sub>2000</sub> 区が最も高く、リン排泄量は SP<sub>2000</sub>~SP<sub>4000</sub> 区で低かった。なお、前報<sup>1)</sup>の飼育成績と本節のそれらに顕著な差異はなかった。これらの結果から、F<sub>1</sub> に対する S<sub>40</sub> 飼料への至適フィターゼ添加量は、2000 units/kg 飼料であることが示された。

Table 4. Hematological characteristics, plasma constituents and relative organ weight in F<sub>1</sub> under different treatments

	C	S <sub>40</sub>	SP <sub>1000</sub>	SP <sub>2000</sub>	SP <sub>3000</sub>	SP <sub>4000</sub>
Hematological characteristics						
Ht (%)	25.7±3.2	26.1±2.5	24.2±2.9	23.8±1.6	25.7±2.1	27.2±2.1
Hb (g/dl)	6.1±0.5	6.1±0.5	5.3±1.0	5.4±0.3	5.6±0.5	5.8±0.8
Hemochemical characteristics						
P (mg/dl)	6.7±1.1	7.5±1.3	7.0±0.8	7.2±1.4	7.3±0.7	7.1±1.0
Ca (mg/dl)	10.8±0.9	10.8±0.9	11.9±1.3	11.7±1.2	11.6±1.7	10.7±0.8
Ca/P	1.6±0.1	1.5±0.2	1.7±0.1	1.7±0.4	1.6±0.2	1.5±0.2
Relative organ weight to somatic weight						
CF	3.6±0.1	3.5±0.2	3.7±0.1	3.7±0.3	3.8±0.2	3.8±0.2
HSI	1.7±0.2	1.6±0.4	1.9±0.3	1.7±0.4	1.8±0.6	2.0±0.1
VSI	8.6±0.6	7.9±0.8	8.7±0.9	8.7±1.3	8.8±0.9	8.2±1.2

Biswas et al.<sup>18)</sup> は、魚体重 24 g の RSB に対する FM40%・SBM30%配合飼料の至適フィターゼ添加量を調べ、2000 units/kg であることを明らかにした。F<sub>1</sub> および RSB で SBM 配合量がそれぞれ 40 および 30%と異なっているにもかかわらず、至適フィターゼ添加量が 2000 mg/kg 飼料と等しかったことは、Kim et al.<sup>1)</sup> が述べたように、F<sub>1</sub> における高い

SBM 利用能を支持するものと考えられる。ただし、至適フィターゼ添加量は SBM はもちろん、他の植物タンパク質源のフィチン酸含量によって、また、それらの配合割合の違いによって変化するの当然である。

一方、供試したフィターゼの酵素化学的特性や基質特異性については不明であるが、フィターゼ

の多量添加で全魚体の脂質含量とLREが有意に低下した。

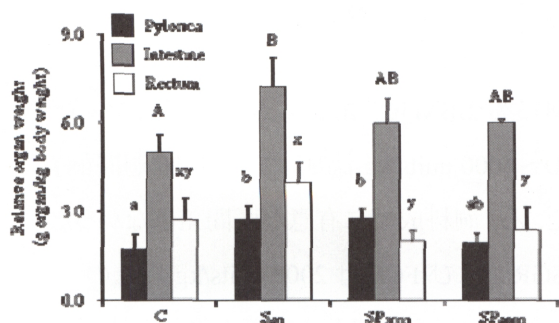


Fig. 2. Relative organ weight in F<sub>1</sub> under different treatments. Values (mean ± SD) in a row sharing same superscripts are not significantly different ( $P>0.05$ ).

一般に市販のフィターゼ剤には狭雑物が含まれている。これら狭雑物が脂質代謝に悪影響を及ぼした可能性も推察されるので、フィターゼの実用に当たっては、今後、詳細に検討する必要がある。ちなみに、Soares and Hughes<sup>19)</sup>によると、フィターゼの添加量は動物種、飼料組成、飼育方法や摂取量によって変化するが、概ね、800~3200 units/kg 飼料であると報告されている。魚類でも種々の条件でフィターゼ添加量は異なるが、ニジマスで400~4500 units/kg 飼料<sup>20-22)</sup>、ヒラメで300 units/kg 飼料<sup>23)</sup> およびクロソイ、*Sebastes schlegeli*で2000 units/kg 飼料<sup>24)</sup>であることが示されている。また、PREにも同様の傾向がみられた。

さらに、本実験における各飼料区のタンパク質および糖質消化率はKim et al.<sup>1)</sup>の各飼料区のそれらより高く、S<sub>40</sub>区の腸組織は対照のC区より有意に肥大した。すでに、RSB<sup>25)</sup>、プリ<sup>26)</sup>、ニジマス<sup>2)</sup>、sharpnose seabream, *Diplodus*

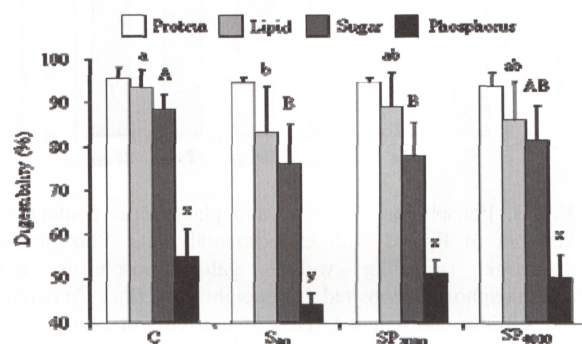


Fig. 3. Apparent digestibility of protein, lipid, sugar and phosphorus in F<sub>1</sub> under different treatments. Values (mean±SD) in a row sharing same superscripts are not significantly different ( $P>0.05$ ).

*puntazzo*<sup>27)</sup>, hybrid striped bass, *Morone saxatilis*×*M. chrysops*<sup>28)</sup>では、成長に伴ってSBMに対する利用能の向上することが示されている。Takii et al.<sup>29)</sup>はSBTIに対するRSBトリプシン様酵素の感受性は成魚より稚魚で高いことを示し、宇川ら<sup>30)</sup>も飼料へのSBMの配合が比腸重値を増大させることを明らかにした。おそらく、F<sub>1</sub>も成長に伴うSBTI非感受性のトリプシン様酵素分泌と消化管の肥大を介して、化学的および物理的消化を促進するのであろう。

F<sub>1</sub>のリン排泄量、すなわち、養殖に伴うリン負荷量は、本実験のC, S<sub>40</sub>, SP<sub>2000</sub>~SP<sub>4000</sub>飼料区とKim et al.<sup>1)</sup>のC, S<sub>40</sub>, SP<sub>2500</sub>飼料区などとの間に顕著な差異はなかったが、本実験の見かけのリン消化率は前報より低かった。しかし、いずれの飼料区でも順調に成長し、リン欠乏に基づくと考えられる特定の症状が見られなかったため、このリン消化率の低下は成長に伴ってリン要求量が減少したことに関連するのかもしれない。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、ご協力、ご指導いただきました近畿大学水産研究所と全南大学校の先生や職員皆様に心から深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Kim YS, Biswas AK, Ji SC, Yong ASK, Biswas BK, Takaoka O, Murata O, Takii K. Dietary Soybean meal Utilization with phytase supplementation for hybrid F<sub>1</sub>, red sea bream (♀) × black sea bream (♂). *Aquaculture Sci.* 2009; **57**: 45-52.
- 2) Murai T, Ogata H, Villaneda A, Watanabe T. Utilization of soy flour by fingerling rainbow trout having different body size. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1989; **55**: 1067-1073.
- 3) Pongmaneerat J, Watanabe T. Nutritive value of protein of feeding ingredients for carp *Cyprinus carpio*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 503-510.
- 4) Satoh S, Porn-Ngam N, Akimoto A, Takeuchi T, Watanabe T. Effect of substitution of white fish meal with extruded soybean meal in diets on zinc and manganese availability to rainbow trout. *Suisanzoshoku* 1997; **45**: 275-284.
- 5) Satoh S, Takanezawa M, Akimoto A, Kiron V, Watanabe T. Changes of phosphorus absorption from several feed ingredients in rainbow trout during growing stages and effect of extrusion of soybean meal. *Fish. Sci.* 2002; **68**: 325-331.
- 6) Tacon AG, Haaster JV, Featherstone PB, Kerr K, Jackson AJ. Studies on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1983; **49**: 1437-1443.
- 7) Jackson AJ, Capper BS. Investigation into the requirements of the tilapia *Sarotherodon mossambicus* for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diet. *Aquaculture* 1982; **29**: 289-297.
- 8) 示野貞夫, 細川秀毅, 山根令子, 益本俊郎, 上野慎一. ハマチ飼料に対する大豆油粕栄養価の加熱時間に伴う変化. 日水誌 1992; **58**: 1351-1359.
- 9) 示野貞夫, 益本俊郎, 美馬孝好, 安藤嘉生. 発酵処理による大豆油粕配合飼料の栄養価の向上. 水産増殖 1993a; **41**: 113-117.
- 10) 示野貞夫, 美馬孝好, 山本 修, 安藤嘉生. ブリ稚魚の成長, 飼料効率および体成分に及ぼす発酵大豆油粕添加の影響. 日水誌 1993b; **59**: 1883-1888.
- 11) 秋元淳志. エクストルーダ処理による魚粉代替タンパク質の利用性改善. 「新しい養魚飼料—代替タンパク質の利用」(渡邊 武編) 恒星社恒星閣, 東京, 1994; 43-53.
- 12) AOAC. Official Methods of analysis of AOAC international, 16th edition. Arlington Chemicals, Contaminants, Drugs, Vol. 1. AOAC International, Arlington: 1995; 1298.
- 13) Hodge JE, Hofreiter BT. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In Methods in carbohydrate chemistry In. Whister RL, Wolfrom ML (ed) Academic press, New York: 1962; 388-389.
- 14) Brown BA. Routine hematology procedures. Hematology: Principles and Procedures In Brown BA (ed) Lea and Febiger, Philadelphia: 1980; 71-112.
- 15) Baginski ES, Slawa SM, Zak B. Phosphate, inorganic. Selected methods of Clinical

- Chemistry In Baginski ES (ed) American Association Clinic Chemistry, Washington, DC: 1982; 313-316.
- 16) Sajjadi M, Carter CG. Dietary phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. *Aquaculture* 2004; **240**: 417-431.
- 17) Harter HL. Critical values for Duncan's new multiple range tests. *Biometrics* 1960; **16**: 671-685.
- 18) Biswas AK, Kaku H, Ji SC, Seoka M, Takii K. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 2007a; **267**: 284-291.
- 19) Soares Jr JH, Hughes KP. Efficacy of phytase on phosphorus utilization. *Proc. Mary. Nutr. Feed Manu.* 1995; 76-79.
- 20) Cheng ZJ, Hardy RW. Effects of extrusion and expelling processing, and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2003; **218**: 501-514.
- 21) Vielma J, Lall SP, Koskela J, Schoner FJ, Mattila P. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 1998; **163**: 309-323.
- 22) Forster I, Higgs DA, Dosanjh BS, Rowshandeli M, Parr J. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. *Aquaculture* 1999; **179**: 109-125.
- 23) Sarker PK, Fukada H, Hosokawa H, Masumoto T. Effects of phytase with inorganic phosphorus supplement diet on nutrient availability of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture Sci.* 2006; **54**: 391-398.
- 24) Yoo GY, Wang X, Choi S, Han K, Kang JC, Bai SC. Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing soybean meal. *Aquaculture* 2005; **243**: 315-322.
- 25) 高木修作. マダイ用魚粉削減飼料の開発に関する研究. 高知大学博士論文, 高知大学. 2002; 215.
- 26) Takii K, Shimeno S, Nakamura M, Itoh Y, Obatake A, Kumai H, Taketa M. Evaluation of soy protein concentrate as a partial substitute for fish meal protein in practical diet for yellowtail. *Proc. Third Int. Symp. on Feeding and Nutr. in Fish Toba Aug. 28-Sept. 1989*; **1**: 281-288.
- 27) Hernández DM, Martínez JF, Jover M, García B. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture* 2007; **263**: 159-167.
- 28) Gallagher LM. The use of soybean meal as a replacement for fish meal in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis*×*M. chrysops*). *Aquaculture* 1994; **126**: 119-127.
- 29) Takii K, Nakamura M, Urakawa K, Miyashita S, Nasu T, Kubo Y, Tanaka Y, Kumai H. Soybean trypsin inhibitors inhibit trypsin and basic proteinase activities of cultured fish. *Fish. Sci.* 1998; **64**: 935-938.
- 30) 宇川正治, 滝井健二, 中村元二, 熊井英水. マダイ用配合飼料に対する大豆油粕の利用. 水産増殖 1994; **42**: 335-338.

31) Halver JE. Nutrition of salmonid fish – III. *J.*

*Nutr.* 1957; **62**: 225-243.